



IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

In re Patent Application of

ROSSI

Atty. Ref.: 3687-2

Serial No. 09/445,218

Group: 1626

Filed: January 28, 2000

Examiner: Oswecki

For: DIPHENYL-TRIAZOLE DERIVATIVES AND THEIR USE  
AS ANTI-GESTATIVE, IMMUNO-SUPPRESSANT AND  
ANTI-TUMORAL AGENTS

\* \* \* \* \*

October 31, 2001

Assistant Commissioner for Patents  
Washington, DC 20231

**SUBMISSION OF PRIORITY DOCUMENTS**

Sir:

It is respectfully requested that this application be given the benefit of the foreign filing date under the provisions of 35 U.S.C. §119 of the following, a certified copy of which is submitted herewith:

<u>Application No.</u>	<u>Country of Origin</u>	<u>Filed</u>
97A001328	Italy	5 June 1997

Respectfully submitted,

NIXON & VANDERHYE P.C.

By: \_\_\_\_\_

Arthur R. Crawford  
Reg. No. 25,327

ARC:pfc  
1100 North Glebe Road, 8th Floor  
Arlington, VA 22201-4714  
Telephone: (703) 816-4000  
Facsimile: (703) 816-4100

NOV 05 2001

RECEIVED

TECH CENTER 1600/2900

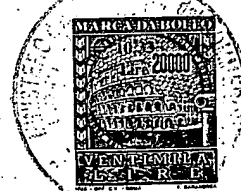
1626

MODULARIO  
LCA - 101



RECEIVED  
NOV 05 2000  
TECH CENTER 1600/2900  
M.C.E. - 1

*Ministero delle Attività Produttive*  
*Direzione Generale per lo Sviluppo Produttivo e la Competitività*  
*Ufficio Italiano Brevetti e Marchi*  
*Ufficio G2*



Autenticazione di copia di documenti relativi al brevetto per:

Invenzione Industriale

N. 1292091      rilasciato il      25.01.1999

*Si dichiara che l'unita' copia è conforme ai documenti originali  
depositati con la domanda di brevetto i cui dati risultano  
dall'accluso processo verbale di deposito e per la quale è stato  
rilasciato il brevetto sopraspecificato.*

1 AGO. 2001

Ron

IL DIRIGENTE

D.ssa Paola DI CINTIO

BEST AVAILABLE COPY

AL MINISTERO DELL'INDUSTRIA DEL COMMERCIO E DELL'ARTIGIANATO  
UFFICIO ITALIANO BREVETTI E MARCHI - ROMA  
DOMANDA DI BREVETTO PER INVENZIONE INDUSTRIALE, DEPOSITO RISERVE, ANTICIPATA ACCESSIBILITÀ AL PUBBLICO

MODULO A

A. RICHIEDENTE (I)

1) Denominazione GEANGE LTD  
Residenza DUBLINO IE  
2) Denominazione \_\_\_\_\_  
Residenza \_\_\_\_\_

B. RAPPRESENTANTE DEL RICHIEDENTE PRESSO L'U.I.B.M.

cognome e nome TRUPIANO Roberto e TRUPIANO Federica cod. fiscale \_\_\_\_\_  
denominazione studio di appartenenza BREVETTI EUROPA S.R.L.  
via PIAZZA BERNINI n. 6 città MILANO cap 20133 (prov) MI

C. DOMICILIO ELETTIVO destinatario

via \_\_\_\_\_ n. \_\_\_\_\_ città \_\_\_\_\_ cap \_\_\_\_\_ (prov) \_\_\_\_\_

D. TITOLO

classe proposta (sez/cl/scf) \_\_\_\_\_ gruppo/sottogruppo \_\_\_\_\_

DERIVATI ETEROCICLICI AROMATICI AZOTATI, PROCEDIMENTO PER LA LORO  
PREPARAZIONE E LORO IMPIEGO COME ANTIGESTATIVI, IMMUNOSOPPRESSORI  
ED ANTITUMORALI

ANTICIPATA ACCESSIBILITÀ AL PUBBLICO: SI ☐ NO ☒

SE ISTANZA: DATA \_\_\_\_\_ N° PROTOCOLLO \_\_\_\_\_

E. INVENTORI DESIGNATI

cognome nome

cognome nome

1) ROSSI Carla 3) \_\_\_\_\_  
2) \_\_\_\_\_ 4) \_\_\_\_\_

F. PRIORITÀ

nazione o organizzazione	tipo di priorità	numero di domanda	data di deposito	allegato S/R
1) <u>NESSUNA</u>	_____	_____	____/____/____	_____
2) _____	_____	_____	____/____/____	_____

SCIOGLIMENTO RISERVE

Data \_\_\_\_\_ N° Protocollo \_\_\_\_\_

G. CENTRO ABILITATO DI RACCOLTA COLTURE DI MICRORGANISMI, denominazione

H. ANNOTAZIONI SPECIALI

NESSUNA

DOCUMENTAZIONE ALLEGATA

N. es.

Doc. 1) <u>1</u> <u>PROV</u>	n. pag. <u>51</u>	riassunto con disegno principale, descrizione e rivendicazioni (obbligatorio 1 esemplare) .....
Doc. 2) <u>0</u> <u>PROV</u>	n. tav. _____	disegno (obbligatorio se citato in descrizione, 1 esemplare .....
Doc. 3) _____ <u>RIS</u>	_____	lettera d'incarico, procura o riferimento procura generale .....
Doc. 4) _____ <u>RIS</u>	_____	designazione inventore .....
Doc. 5) <u>0</u> <u>RIS</u>	_____	documenti di priorità con traduzione in italiano .....
Doc. 6) <u>0</u> <u>RIS</u>	_____	autorizzazione o atto di cessione .....
Doc. 7) <u>0</u>	_____	nominativo completo del richiedente .....

8) attestati di versamento, totale lire NOVECENTOQUINDICIMILA

obbligatorio

COMPILATO IL 04 06 1997

FIRMA DEL (I) RICHIEDENTE (I)

Federica Trupiano

CONTINUA SINO NO

DEL PRESENTE ATTO SI RICHIEDE COPIA AUTENTICA SINO SI

UFFICIO PROVINCIALE IND. COMM. ART. DI

MILANO

codice 15

VERBALE DI DEPOSITO

NUMERO DI DOMANDA

MI97A 001328

Reg. A

L'anno millenovecento

NOVANTASETTE

il giorno

CINQUE

del mese di

GIUGNO

Il (I) richiedente (I) sopralindicato (I) ha (hanno) presentato a me sottoscritto la presente domanda, corredate di n. 00 fogli aggiuntivi per la concessione del brevetto soprariportato.

I. ANNOTAZIONI VARIE DELL'UFFICIO ROGANTE

IL DEPOSITANTE

Federica Trupiano

timbro  
dell'ufficio

L'UFFICIALE ROGANTE

CORTONESI MAURIZIO

## RIASSUNTO INVENZIONE CON DISEGNO PRINCIPALE

NUMERO DOMANDA

1197A001328

REG. A

DATA DI DEPOSITO

05061997

NUMERO BREVETTO

DATA DI RILASCIO

/ /

## A. RICHIEDENTE (I)

Denominazione

GEANGE LTD

Residenza

DUBLINO IE

## D. TITOLO

DERIVATI ETEROCICLICI AROMATICI AZOTATI, PROCEDIMENTO PER LA LORO  
PREPARAZIONE E LORO IMPIEGO COME ANTIGESTATIVI, IMMUNOSOPPRESSORI  
ED ANTITUMORALI

Classe proposta (sez./cl./scl/)

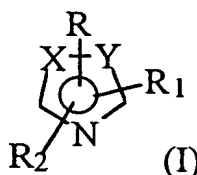
/ / /

(gruppo/sottogruppo)

/ / /

## L. RIASSUNTO

I derivati eterociclici aromatici azotati aventi la seguente formula generale:



sono vantaggiosamente impiegati come anti-gestativi, immunosoppressori e antitumorali, in particolare per il trattamento del coriocarcinoma umano. I suddetti composti, quando impiegati come anti-gestativi, risultano efficaci a basso dosaggio e per singola somministrazione.

Le composizioni farmaceutiche comprendenti detti derivati di formula (I) come principio attivo, sono formulate in modo opportuno per essere impiegate in somministrazioni parenterali per via intramuscolare, sottocutanea ed endovenosa, ed in somministrazioni topiche per via epicutanea e transdermica.

## M. DISEGNO



TITOLARE: GEANGE Limited - DUBLIN IE

# OGGETTO DELL'INVENZIONE

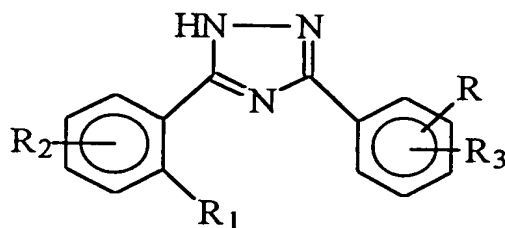
La presente invenzione ha per oggetto derivati eterociclici aromatici azotati e loro impiego come anti-gestativi, immunosoppressori ed antitumorali.

Pure oggetto della presente invenzione è un procedimento per la preparazione di derivati eterociclici aromatici azotati.

Ancora oggetto della presente invenzione è una composizione farmaceutica che comprenda almeno un derivato eterociclico aromatico azotato secondo il presente trovato come principio attivo.

## STATO DELLA TECNICA

Sono note alcune classi di composti che hanno mostrato attività anti-gestativa, ed in particolare BE 866,728 descrive una classe di 1,2,4-triazoli 3,5-disostituiti aventi la seguente formula generale:

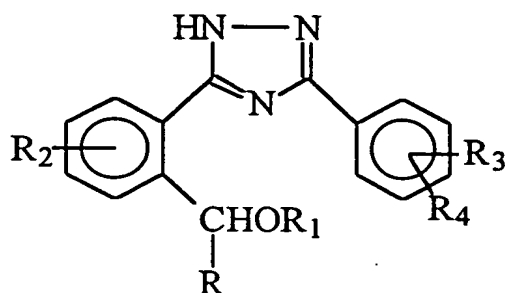


MI 97 A 1328

5610.1997

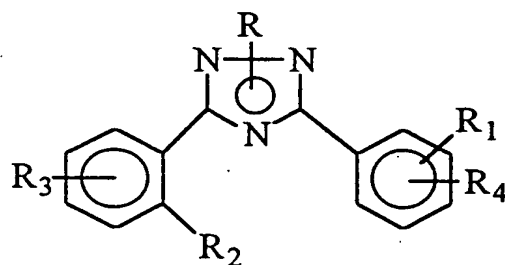
dove R<sub>1</sub> è un gruppo alchilico C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>.

EP 11129 descrive derivati di 1,2,4-triazoli aventi la seguente formula generale:



dove R è idrogeno o metile ed R<sub>1</sub> è idrogeno o gruppo alchilico C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, oppure R ed R<sub>1</sub> presi assieme rappresentano un legame aggiuntivo tra gli atomi di carbonio e di ossigeno.

BE 879,732 descrive una classe di composti aventi la seguente formula generale:



dove, tra le altre possibili sostituzioni, R indica idrogeno oppure un gruppo R<sub>5</sub>-CO dove R<sub>5</sub> è scelto tra alchile C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, alchenile C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>, alchinile C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>, mentre R<sub>2</sub> è scelto come gruppo -CH(R<sub>7</sub>)OR<sub>8</sub> dove R<sub>7</sub> è idrogeno o metile ed R<sub>8</sub> è scelto pari a R<sub>5</sub>-CO.

Nei suddetti documenti di arte nota, i dati farmacologici mostrano che i prodotti sopra indicati sono dotati di una elevata attività anti-gestativa,



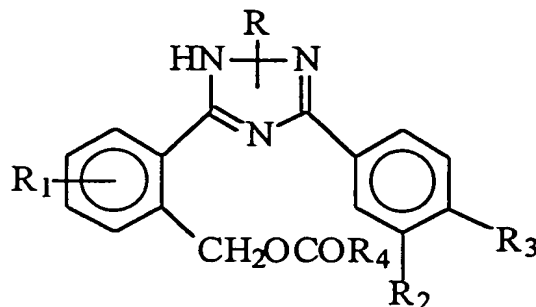
dopo trattamenti parenterali multi-dose protratti per 5 giorni.

Viene anche descritto in letteratura il 3-(2-etilfenil)- 5-(3-metossifenil) -1H- 1,2,4-triazolo, pure indicato con la sigla DL 111-IT [Reviews on Drug Metabolism & Drug Interactions, Vol.IV, N.2&3, 1982, A.Assandri, A.Omodei-Salè, G.Galliani]. Il suddetto DL 111-IT, descritto in BE 879,732, ha mostrato una interessante attività come anti-gestativo in tutte le specie animali indagate, incluso il topo, ratto, cane e la scimmia. Tale composto è stato proposto come agente anti-gestativo per uso umano.

I composti ad attività anti-gestativa secondo l'arte nota, incluso il composto DL111-IT, quando sperimentati secondo un protocollo che prevede un trattamento parenterale a dose singola, sono risultati efficaci a dosi molto più elevate rispetto al trattamento parenterale multi-dose.

EP 0080053 descrive dei derivati 3,5-difenil -1H- 1,2,4 triazolici che, rispetto ai derivati precedentemente descritti, presentano una struttura modificata; tale modifica è effettuata allo scopo di ottenere dei prodotti con un'elevata attività anti-gestativa dopo somministrazione parenterale per via sottocutanea intramuscolare in dose singola.

I composti descritti in EP 0080053 hanno la seguente formula generale:



dove, R è scelto tra idrogeno e R<sub>5</sub>CO- dove R<sub>5</sub> è un gruppo idrocarburico alifatico saturo o insaturo C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>, R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub> sono scelti tra idrogeno, alchile o alcossile a catena corta, o R<sub>2</sub> ed R<sub>3</sub> assieme rappresentano un gruppo metilendioksi, R<sub>4</sub> è scelto come gruppo idrocarburico alifatico saturo o insaturo C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>.

I suddetti derivati hanno mostrato una elevata attività anti-gestativa a seguito di un trattamento in dose singola. Tale attività si è però dimostrata altamente specie-specifica; infatti, mentre nei roditori l'attività anti-gestativa è risultata molto elevata, si è osservato una calo drastico di tale attività quando i prodotti sono stati saggiati nei mammiferi superiori, ad esempio nel cane. In quest'ultima specie infatti, a causa della troppo lenta velocità di idrolisi, i composti vengono metabolizzati prima che il principio attivo sia biodisponibile.



#### SCOPI DELL'INVENZIONE

Scopo della presente invenzione è quello di mettere a disposizione dei derivati eterociclici aromatici azotati che siano provvisti di attività anti-gestativa a basse dosi e dopo trattamento singolo in diverse specie animali, compresi i mammiferi superiori e l'uomo.

Ancora scopo del presente trovato è quello di mettere a disposizione dei derivati eterociclici aromatici azotati che siano provvisti di attività immunosoppressiva.

Pure scopo della presente invenzione è quello di mettere a disposizione dei derivati eterociclici aromatici azotati che siano provvisti di attività antitumorale.

Sempre scopo della presente invenzione è quello di mettere a disposizione dei derivati eterociclici aromatici azotati ad attività anti-gestativa, immunosoppressiva, antitumorale che non risulti specie-specifica.

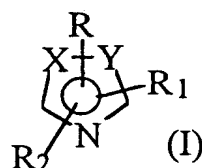
Ancora scopo della presente invenzione è quello di mettere a disposizione dei derivati eterociclici aromatici azotati a lunga durata d'azione e quindi in grado di esprimere l'attività desiderata mediante trattamenti singoli (anti-gestativa) o comunque

ripetuti ad ampi intervalli di tempo (immunosoppressiva ed antitumorale).

Sempre scopo del presente trovato è quello di mettere a disposizione una composizione farmaceutica che comprenda almeno un derivato eterociclico aromatico azotato come principio attivo, che risulti di facile ed agevole somministrazione, che sia ben tollerata, e che consenta di ottenere un elevato indice terapeutico.

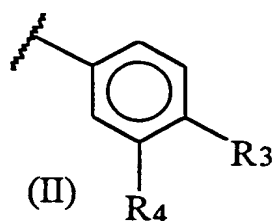
#### DESCRIZIONE DELL'INVENZIONE

Questi ed altri scopi ancora e relativi vantaggi che meglio saranno chiariti dalla descrizione che segue, vengono raggiunti da derivati eterociclici aromatici azotati aventi la seguente formula generale:



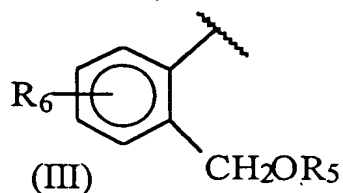
dove:

- quando  $X=Y$ ,  $X,Y=N$ ;
- quando  $X \neq Y$ ,  $X,Y=N,C,CH$ ;
- $R$  è scelto tra idrogeno,  $-COR_g$  dove  $R_g$  è un idrocarburo alifatico, saturo o insaturo  $C_1-C_{10}$ , oppure  $R$  rappresenta qualsiasi altro gruppo adatto a formare un legame con un atomo di azoto;
- $R_1$  ha la seguente formula generale:

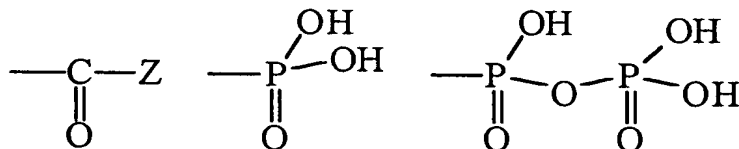


dove  $R_3$  è scelto tra idrogeno, alogeno, alchile o alcossile  $C_1-C_{10}$ ,  $R_4$  è scelto tra idrogeno, alchile o alcossile  $C_1-C_{10}$ , oppure  $R_3$  ed  $R_4$  presi assieme rappresentano un gruppo metilendiossi;

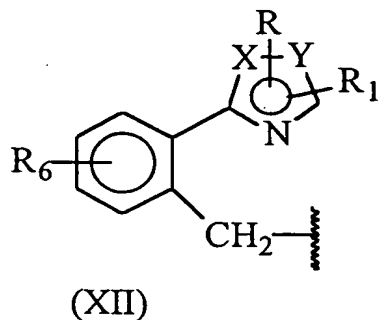
-  $R_2$  ha la seguente formula generale:



dove  $R_5$  è scelto tra



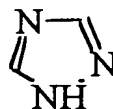
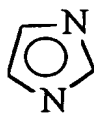
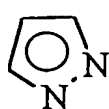
dove  $Z=OR_7$  con  $R_7$  scelto tra: idrocarburo alifatico saturo o insaturo, lineare o ramificato  $C_1-C_{20}$ , oppure è scelto secondo la formula seguente:



dove R, R<sub>1</sub>, X ed Y sono definiti come sopra, ed R<sub>6</sub> è scelto tra idrogeno, alogeno, alchile o alcossile C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>, oppure Z è scelto uguale a NHR<sub>8</sub> dove R<sub>8</sub> è una catena alchilica C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub> lineare o ramificata, detti R<sub>1</sub> ed R<sub>2</sub> non essendo mai posizionati su due atomi adiacenti dell'anello eterociclico aromatico.

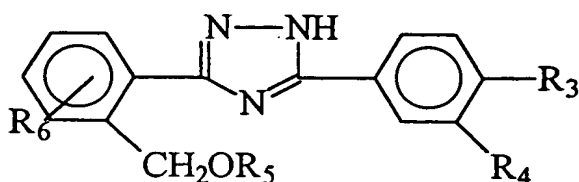
Secondo il presente trovato, con il termine idrocarburo alifatico, saturo o insaturo, si intende un gruppo alchile, alchenile o alchinile lineare o ramificato, che può contenere anche più di un doppio o triplo legame. Sempre secondo la presente invenzione, con il termine alchile od alcossile si intende un gruppo alchilico o alcossilico lineare o ramificato.

In particolare, detto derivato eterociclico aromatico azotato di formula (I) è un derivato rispettivamente di pirazolo, imidazolo e 1H-1,2,4-triazolo:



Secondo il presente trovato, detto derivato di formula (I) è un derivato di tipo triazolico ed ha la seguente formula generale:



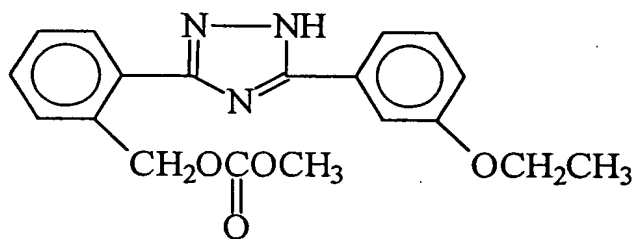


(IV)

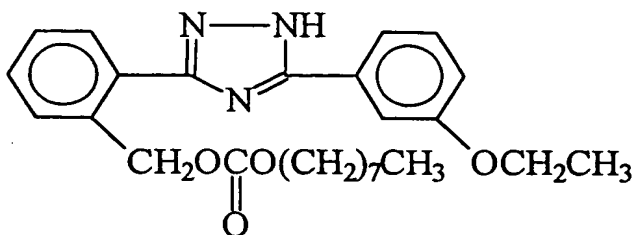
dove  $X=Y=N$  e gli altri sostituenti sono definiti come per il derivato di formula (I).

Sono risultati particolarmente interessanti i derivati di formula (IV) dove  $R_6$  è scelto uguale a idrogeno,  $R_4$  è scelto uguale a  $OCH_3$  oppure  $OCH_2CH_3$ ,  $R_3$  è scelto uguale a idrogeno,  $R_5$  è scelto come  $COZ$  dove  $Z=OR_7$  con  $R_7$  gruppo idrocarburico alifatico lineare saturo  $C_1-C_{12}$ .

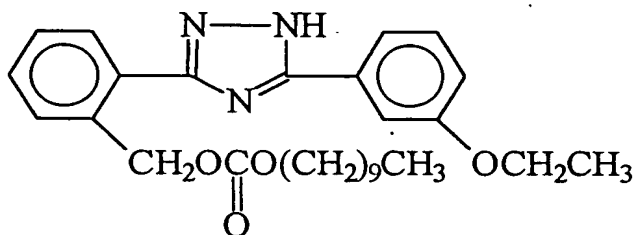
Sempre secondo il presente trovato, sono risultati particolarmente interessanti i derivati aventi le formule seguenti:



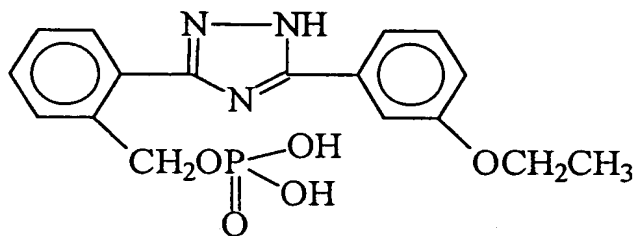
(V)



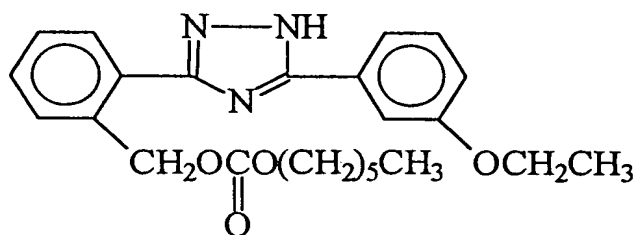
(VI)



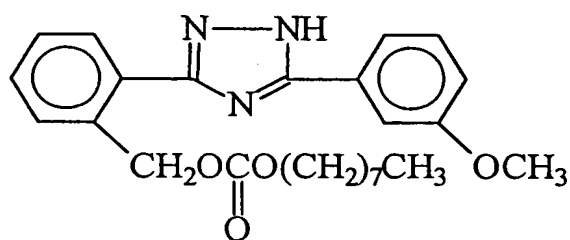
(VII)



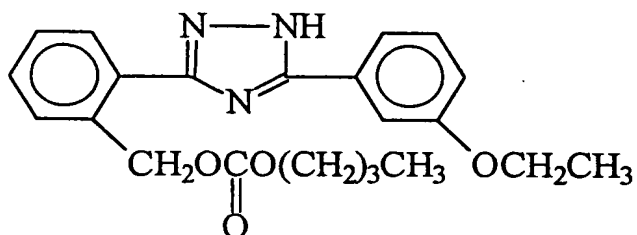
(VIII)



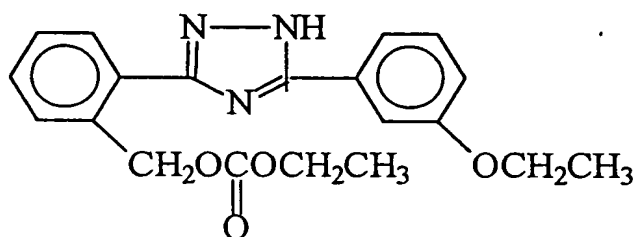
(XVI)



(XIII)

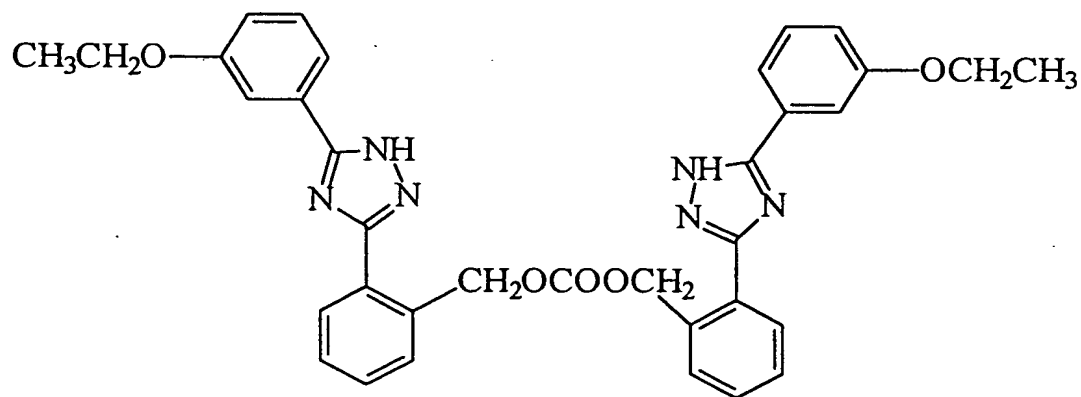


(XIV)

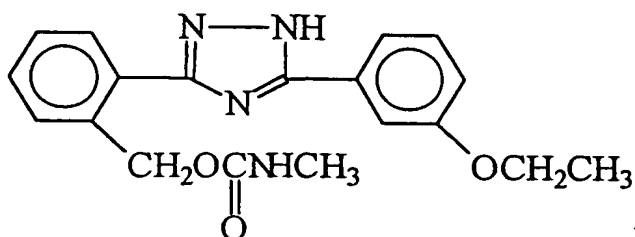


(XV)

Inoltre, sempre secondo il presente trovato, sono risultati particolarmente vantaggiosi i derivati aventi le seguenti formule:



(XVII)



(XVIII)



A causa della elevata mobilità degli atomi di idrogeno degli 1,2,4-triazoli (come riportato in letteratura ad esempio da K.T.Potts, Chem.Rev. 61, 99, 1961; K.T.Potts, J.Chem.Soc. 3451, 1954), i composti di formula (I) secondo il presente trovato dove X=Y=N, possono anche esistere come forme tautomeriche corrispondenti, dove l'atomo di idrogeno è posizionato sull'altro dei due atomi di azoto adiacenti del nucleo triazolico. Di conseguenza, entrambe dette forme tautomeriche devono essere considerate come parte della presente invenzione. E' noto che le forme tautomeriche scambiano rapidamente una nell'altra e sono, di conseguenza, in uno stato di equilibrio dinamico. In ogni caso, nel corso delle intere descrizione e rivendicazioni relative alla presente invenzione, gli 1H-1,2,4-triazoli 3,5-disostituiti secondo il presente trovato, saranno numerati come ad esempio per il derivato (V).

I derivati oggetto del presente trovato sono provvisti di attività anti-gestativa, immunosoppressiva ed





antitumorale. In particolare, l'attività anti-gestativa si esplica mediante trattamento per singola dose e quindi non richiede trattamenti ripetuti del soggetto protratti nel tempo. Inoltre, i suddetti derivati risultano notevolmente efficaci a dosi molto più basse di quelle tossiche o in grado di indurre effetti collaterali indesiderati.

Le attività farmacologiche esplicate dai derivati oggetto del presente trovato, pur risultando diverse tra loro, sono comunque riconducibili ad un meccanismo d'azione comune. Il modello di riferimento per questa azione farmacologica multipla è la placenta, che rappresenta un sistema cellulare atipico in rapida proliferazione. Come riportato da Aitken, Beaconsfield, Ginsher, "Origin and formation of the placenta"; Beaconsfield P., Ville C. (Eds.) Pergamon Press, 152-163 (1979), questo sistema, durante la fase iniziale di sviluppo, ha forti similitudini con un sistema tumorale. In particolare, la placenta è tollerata dall'organismo della madre a causa di una alterazione della risposta immunologica che comporta la mancanza della risposta infiammatoria all'invasione di blastocisti e/o trofoblasti. Studi biochimici sul tessuto placentare, durante il primo periodo che segue l'impianto, hanno dimostrato come, l'attività anti-

gestativa avvenga attraverso un'azione selettiva sulle cellule deciduali e trofoblastiche. La stessa azione selettiva di tipo anti-proliferativo viene ipotizzata contro un tipo di tumore di origine trofoblastica quale il coriocarcinoma. Ancora, l'attività immunosoppressiva viene considerata come la risposta iniziale o finale alle alterazioni biochimiche primarie.

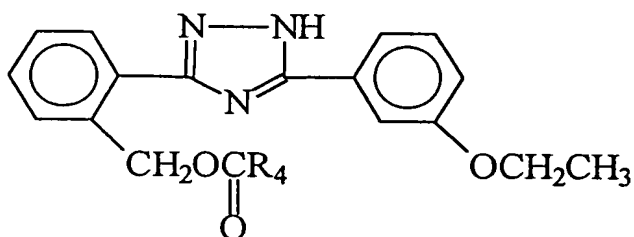
I derivati di formula (I) oggetto della presente invenzione, quando somministrati in singola dose, per via parenterale, mostrano una attività farmacologica multipla, e precisamente:

- hanno dimostrato di essere molto efficaci nell'interrompere la gravidanza nei roditori e non-roditori, e quindi hanno mostrato attività anti-gestativa non specie-specifica;
- si sono dimostrati molto efficaci nel ridurre la risposta immunologica umorale e cellulare in modelli animali che risultano predittivi della attività farmacologica nell'uomo;
- hanno evidenziato una attività elettiva per il coriocarcinoma, impiegando un modello di coriocarcinoma umano trapiantato nel topo.

I derivati oggetto della presente invenzione sono caratterizzati dalla presenza di un legame facilmente idrolizzabile attraverso reazioni enzimatiche non

specie-specifiche in corrispondenza del gruppo R<sub>5</sub>; tale idrolisi consente la liberazione del principio attivo il quale esplica così la sua azione in vivo. Il legame caratteristico del gruppo R<sub>5</sub> nei derivati oggetto del presente trovato, è di tipo diverso rispetto ai legami presenti nei derivati dell'arte nota, ed è idrolizzabile secondo meccanismi di reazione diversi. Questi fattori fanno sì che, a differenza dei composti dell'arte nota, i composti oggetto dell'invenzione siano efficaci anche su specie animali superiori, compreso l'uomo.

Al fine di valutare le differenze esistenti tra le diverse specie animali nella velocità di idrolisi del legame di tipo estereo, i composti (XV), (XIV) e (VI) ed alcuni derivati dell'arte nota descritti in EP 0080053 (composti A, B e C) sono stati testati "in vitro".



dove quando R<sub>4</sub> è scelto come -C<sub>3</sub>H<sub>7</sub> il composto viene indicato con A;

quando R<sub>4</sub> è scelto come -C<sub>7</sub>H<sub>15</sub> il composto viene indicato con B;

quando  $R_4$  è scelto come  $-C_9H_{23}$  il composto viene indicato con C.

I composti sono stati disciolti in una soluzione madre di etanolo ed incubati a  $37^\circ C$  per 1 ora ad una concentrazione  $10^{-5}$  M in siero di ratto, cane e uomo (diluizione 1:4, v/v, con soluzione fisiologica NaCl 0,9%) e la velocità di idrolisi espressa come nMoli/ora di principio attivo liberato, vale a dire di 3-(2-idrossimetil fenil)-5- (3-etossifenil) -1H- 1,2,4 triazolo che equivale al composto D descritto in EP 0080053. I valori riportati in Tabella 1 dimostrano come i composti noti A, B e C non siano praticamente idrolizzati o siano solo lentissimamente idrolizzati nelle specie superiori quali il cane e l'uomo. Per contro, i composti (XV), (XIV) e (VI) sono rapidamente idrolizzati sia nei roditori che nelle altre specie superiori prese in esame.

TABELLA 1: VELOCITA' DI IDROLISI DEI COMPOSTI (XV), (XIV) E (VI) E DEI 3-(3-ETOSSI FENIL)-5- (2-ACILOSSIMETIL - FENIL) -1H- 1,2,4 TRIAZOLO DERIVATI.

COMPOSTO	VELOCITA' DI IDROLISI (nMoli/ora)		
	RATTO	CANE	UOMO
(XV)	>120	>120	>120
A	>120	16	12
(XIV)	>120	>120	>120





B	>120	3	2
(VI)	>120	>120	>120
C	>120	<0.5	<0.5

Dato che l'attacco metabolico di queste strutture in posizione meta relativamente al sostituyente  $R_1$  di struttura (II), porta a dei metaboliti inattivi o scarsamente attivi, ne consegue che la troppo lenta idrolisi dei composti A, B e C porta ad una marcata riduzione dell'attività di tali molecole nelle specie superiori. Per contro, come già detto, i derivati di formula (I) oggetto del presente trovato, possono essere vantaggiosamente impiegati nei mammiferi superiori, incluso cane e uomo.

I composti di formula (I) oggetto del presente trovato sono provvisti di attività anti-gestativa e rappresentano una classe di nuovi composti di tipo non-ormonale, ad attività post-impianto; possono essere utilizzati per interrompere la gravidanza nei mammiferi a seguito di un trattamento a basso dosaggio e per singola somministrazione.

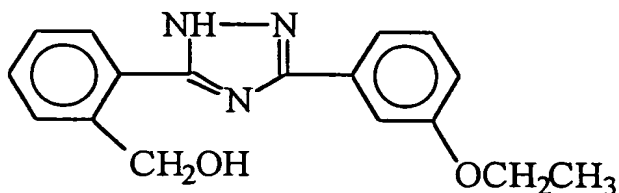
L'azione di interruzione della gravidanza è stata determinata mediante esperimenti nei ratti e nei cani. In particolare, ratti femmina di razza Sprague Dawley aventi un peso di circa 200-230 g sono state accoppiate, ed il giorno in cui veniva rilevata la

presenza di sperma è stato considerato come primo giorno di gravidanza. La gravidanza è stata successivamente confermata al momento dell'autopsia della presenza di siti di impianto nell'utero.

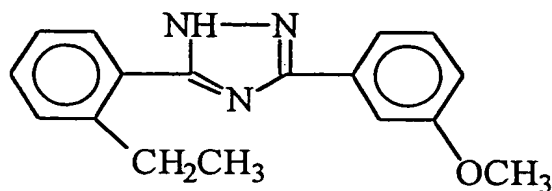
I composti da testare sono stati sciolti in olio di sesamo contenente il 20% di benzilbenzoato e somministrati per via sottocutanea, mediante una singola iniezione, in 7° giorno di gravidanza. Gli animali sono stati poi sottoposti ad autopsia il 16° giorno di gravidanza e l'utero è stato esaminato per verificare la presenza di siti di impianto, riassorbimenti fetali, feti vivi, emorragie intrauterine, anomalie dell'utero, della placenta e dei feti [Galliani et al., CONTRACEPTION 23, 163-180(1981)].

I composti sono stati saggiati a dosi differenti allo scopo di determinare la relazione dose-effetto.

I valori riportati in Tabella 3 indicano la dose alla quale si ha l'interruzione della gravidanza (assenza di feti vivi) nel 50% degli animali trattati. Per confronto, sono riportati i valori di ED<sub>50</sub> di alcuni triazoli correlati secondo l'arte nota. In particolare, il composto D, inteso come principio attivo, ha la seguente formula:



ed è stato preparato come descritto in EP 11129, mentre il composto indicato con "E" ha la seguente formula:



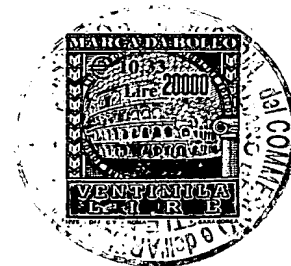
è stato preparato come descritto in BE 879732 e corrisponde al composto pure indicato con la sigla DL 111-IT.

TABELLA 3: ATTIVITA' DI INTERRUZIONE DELLA GRAVIDANZA IN RATTI S.D. DOPO UNA SINGOLA INIEZIONE SOTTOCUTANEA.

COMPOSTO	GIORNO DI GRAVIDANZA	ED50 mg/kg/giorno	ED50 μmoli/kg/giorno
(XV)	7°	10	27.2
(XIV)	7°	8	20.3
(XVI)	7°	5	11.8
(VI)	7°	2	4.4
D	7°	16	54.6
E	7°	35	125.4

TA

I risultati ottenuti dimostrano come i composti di formula (I) oggetto della presente invenzione, sono, dopo una singola iniezione, molto più efficaci dei due composti secondo l'arte nota, presi come riferimento. Studi di tossicità acuta hanno mostrato come le dosi letali del composto (VI) ( $LD_{50} > 1000$  mg/kg) sono tre ordini di grandezza superiori a quelle anti-gestazionali.



Un altro esperimento è stato condotto su cani femmine di razza Beagle, alle quali è stato somministrato il composto (VI) oggetto del presente trovato, in una singola dose intramuscolare in 15a, 20a e 25a giornata di gestazione. Il composto è stato somministrato per via intramuscolare in una zona del muscolo della coscia posteriore destra, sciolto in olio di sesamo alla dose di 5 mg/Kg. L'azione anti-gestativa è stata verificata mediante laparotomia esplorativa dei corni uterini. La presenza di feti vivi o morti è stata dedotta dalle dimensioni e dall'apparenza di ciascun sito di impianto (rigonfiamento uterino), secondo una metodologia descritta da Galliani et al., *SMALL ANIM. PRACTICE* 25, 211-222 (1984). I risultati sono riassunti in Tabella 4. Il composto (VI) è risultato altamente efficace e ben tollerato.



**TABELLA 4: EFFETTO ANTI-GESTATIVO DEL COMPOSTO (VI)  
SOMMINISTRATO COME SINGOLA DOSE PER VIA INTRAMUSCOLARE  
NELLA CAGNA.**

SOMMINISTRAZIONE (giorno di gestazione)	DOSE mg/kg (mmoli/kg)	N.DI ANIMALI	GESTAZIONE INTERROTTA (%)
15	5 (11.1)	5	80
20	5 (11.1)	5	100
25	5 (11.1)	5	100

I composti di formula (I) oggetto del presente trovato sono provvisti di attività immunosoppressiva sia sull'immunità umorale che cellulare, quando somministrati durante la fase induttiva della risposta immunologica.

L'attività immunosoppressiva dei derivati oggetto della presente invenzione, è stata determinata effettuando degli esperimenti nel topo.

In particolare, è stata studiata la risposta anticorpale ai globuli rossi di pecora (SRBC) ed ai lipopolisaccaridi (LPS); sono stati utilizzati come modelli sperimentali topi B6D2F1 ai quali sono stati iniettati per via intravenosa  $10^8$  SRBC (giorno 0). La formazione di cellule a placche (PFC) diretta (IgM) ed indiretta (IgG) è stata valutata nella milza 4 e 10 giorni dopo, secondo il metodo descritto da Jerne et

al., SCIENCE 140, 405(1963); Dresser, Wortis, NATURE, 208, 859(1965). PCF indiretti sono stati determinati con antisieri di coniglio alle gamma globuline di topo. Topi B6D2F1 sono stati immunizzati con 20 mg LPS per via intraperitoneale. Quattro giorni dopo, PCF sono state determinate nella milza per SRBC rivestite con LPS secondo quanto descritto da Moller, NATURE, 207, 1166(1965).

TABELLA 5: RISPOSTA ANTICORPALE IgM AD SRBC E LPS DOPO SINGOLO TRATTAMENTO CON IL COMPOSTO (VI) A CONFRONTO CON LA RISPOSTA OTTENUTA DOPO TRATTAMENTO MULTIPLO CON IL COMPOSTO "E" SECONDO L'ARTE NOTA.

COMPOSTO	ANTIGENE	GIORNO DI TRATTAMENTO	DOSE (mmoli/Kg/giorno)	PCF/MILZA $10^{-3}$ (media $\pm$ S.D)
(VI)	SRBC	0	veicolo	124 $\pm$ 18
	SRBC	0	8.60	12 $\pm$ 3*
	LPS	0	veicolo	10 $\pm$ 2
	LPS	0	8.60	3 $\pm$ 1*
E	SRBC	0,1,2,3	veicolo	115 $\pm$ 20
	SRBC	0,1,2,3	17.92	7 $\pm$ 2*
	LPS	0,1,2,3	veicolo	11 $\pm$ 2
	LPS	0,1,2,3	17.92	4 $\pm$ 1*

\*  $p < 0.01$

**TABELLA 6:** RISPOSTA ANTICORPALE IgG O SRBC DOPO SINGOLO TRATTAMENTO CON IL COMPOSTO (VI) A CONFRONTO CON LA RISPOSTA OTTENUTA DOPO TRATTAMENTO MULTIPLO CON IL CAMPIONE e SECONDO L'ARTE NOTA.

COMPOSTO	GIORNO DI TRATTAMENTO	DOSE (mmoli/Kg/giorno)	PCF/MILZA $10^{-3}$ (media $\pm$ S.D)
(VI)	0	VEICOLO	24 $\pm$ 3
	0	2.15	3 $\pm$ 3*
E	0,1,2,3	VEICOLO	26 $\pm$ 4
	0,1,2,3	3.58	7 $\pm$ 3*

\*  $p < 0.01$

Il saggio di ipersensibilità ritardata (Delayed Type Hypersensitivity, DTH), è stato condotto su topi C57B1/6 somministrando per via sottocutanea  $2 \times 10^8$  SRBC emulsionato in coadiuvante di Freund completo. Dieci giorni più tardi una dose di  $10^8$  SRBC è stata inoculata nella zampa. La reazione DTH è stata registrata 24 ore più tardi misurando il rigonfiamento della zampa, secondo il metodo descritto da Kerckhaert et al., CELL IMMUNOL. 29, 232(1977).

**TABELLA 7:** EFFETTO SU DTH DOPO SINGOLO TRATTAMENTO CON (VI) A CONFRONTO CON QUELLO OTTENUTO DOPO TRATTAMENTO MULTIPLO CON IL COMPOSTO "E" SECONDO L'ARTE NOTA.

*RT*

COMPOSTO	GIORNO DI TRATTAMENTO.	DOSE (mmoli/Kg/giorno)	UNITA' DI INGROSSAMENTO DELLA ZAMPA* (media+S.D.)
(VI)  E	0	VEICOLO	11.4+3.7
	0	8.60	5.2+1.2**
	0,1,2,3,4,5,6,7,8	VEICOLO	10.1+3.3
	0,1,2,3,4,5,6,7,8	17.92	4.1+1.4**



\* 1 unità=0.1 mm, \*\* p<0.01

I composti oggetto del presente trovato hanno poi mostrato una elevata e specifica attività antitumorale, come dimostrato da alcune prove "in vivo" condotte sul coriocarcinoma umano.

In particolare, il composto (VI) oggetto del presente trovato, quando somministrato per via intraperitoneale, è risultato molto efficace nell'inibire la crescita di un coriocarcinoma umano trapiantato in un topo nudo. Tenuto conto che l'attività per via intraperitoneale è circa 30 volte inferiore a quella misurata per via sottocutanea, la potenza del composto saggiato appare essere elevata e paragonabile a quella mostrata dall'acido 4-amino -10-metilfolico o "Methotrexate", preso come riferimento, essendo un farmaco utilizzato

nella terapia del coriocarcinoma che, come è noto, è un tumore gestativo che deriva da cellule trofoblastiche.

TABELLA 8: EFFETTO ANTITUMORALE DEL COMPOSTO (VI), DOPO TRATTAMENTO SETTIMANALE, PER 2 SETTIMANE CONSECUTIVE, IN TOPI NUDI TRAPIANTATI CON CORIOCARCINOMA UMANO.

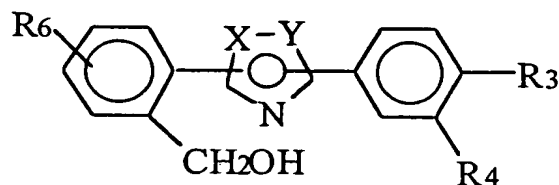
COMPOSTO	DOSE (mmoli/Kg)	TRATTAMENTO	ATTIVITA' (% di riduzione della crescita del tumore)
(VI)	8.91	SETTIMANALE PER 2 SETTIMANE CONSECUTIVE	61
METHOTREXATE	1 mg/Kg	GIORNALMENTE PER 14 GIORNI CONSECUTIVI	45

I derivati oggetto della presente invenzione, quando impiegati come immunosoppressori, anti-gestativi, antitumorali, sono vantaggiosamente preparati, come principi attivi, in composizioni farmaceutiche per uso topico, transdermico ed iniettabili in modo da poter essere somministrati sia per via epicutanea che per via

parenterale, ad esempio, per via sottocutanea, intramuscolo. Dette composizioni farmaceutiche sono opportunamente formulate utilizzando, ad esempio, adatti sistemi a rilascio transdermico, particolarmente adatti per il trattamento epicutaneo, oppure sono formulate utilizzando sistemi acquosi adatti alla somministrazione intravenosa o veicoli non acquosi per il trattamento epicutaneo, sottocutaneo ed intramuscolare. Ad esempio, come veicoli per la somministrazione epicutanea, sottocutanea ed intramuscolare, possono essere vantaggiosamente impiegati oli di origine vegetale o esteri di acidi grassi quali olio di sesamo, olio di semi di mais, olio di arachidi, olio di semi di cotone, oleato di etile. Possono essere vantaggiosamente impiegati anche altri veicoli oleosi, a patto che non risultino tossici nei volumi impiegati e che non interferiscano con l'efficacia terapeutica della preparazione. Le suddette composizioni comprendono inoltre agenti microbici di tipo noto per prevenire la crescita di microrganismi nella preparazione, nonchè antiossidanti essenzialmente per prevenire l'irrancidimento del veicolo oleoso. Sempre a titolo esemplificativo, la dose ottimale contiene, in genere, dall'1% al 10% (peso/volume) di almeno un derivato di formula (I) oggetto del presente

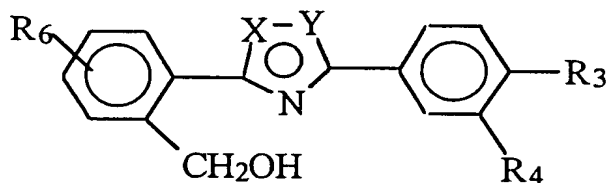
trovato, come principio attivo, e la dose ottimale dipende poi dalle specie e dalla taglia dell'animale e/o del soggetto da trattare.

I derivati oggetto della presente invenzione, sono ad esempio vantaggiosamente preparati a partire da un derivato (IX) avente la seguente formula generale:



(IX)

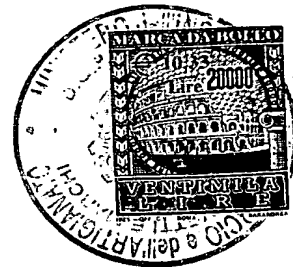
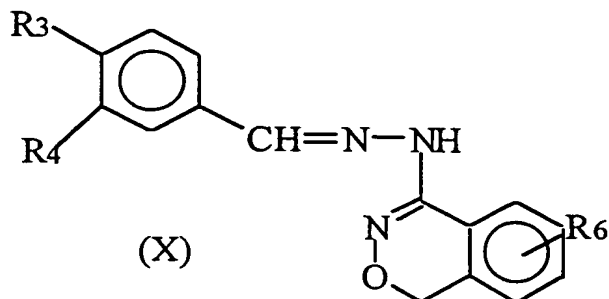
In particolare, quando i sostituenti R<sub>1</sub> ed R<sub>2</sub> si trovano rispettivamente in posizione 3 e 5, il corrispondente derivato (XI) ha la formula seguente:



(XI)

Il suddetto derivato di formula (XI) è preparato secondo varie procedure generalmente note in letteratura. In particolare, quando X=Y=N, il corrispondente derivato (XIa) può essere vantaggiosamente preparato secondo quanto descritto in EP 11129. In questo caso il metodo consiste nel

riarrangiamento di idrazoni di benzaldeidi sositutite  
con 4-idrazino-1H- 2,3-benzossazine di formula (X):



dove R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub> ed R<sub>6</sub> sono definiti come per i derivati di  
formula (I). Il riarrangiamento avviene ponendo a  
riflusso l'idrazone (X) in un solvente organico  
altobollente, quale ad esempio xilene, N,N-  
dimetilformammide, idrocarburi aromatici alogenati, per  
circa 30 minuti e successivamente il composto (XI)  
viene recuperato per filtrazione.

Un altro procedimento utilizzato per la preparazione  
del derivato di formula (XIa) prevede la ossidazione  
del corrispondente 2-metiltriazolo, sia direttamente  
all'alcool (XIa), che all'acido carbossilico  
corrispondente, seguita in questo caso dalla riduzione  
di quest'ultimo ad alcool (XIa). Nel primo caso, gli  
agenti ossidanti impiegati sono scelti tra cerio  
ammonio nitrato o ossido d'argento(II), mentre  
nell'ultimo caso lo stadio ossidativo è realizzato  
mediante uno degli ossidanti comunemente noti dallo  
stato della tecnica, per trasformare un gruppo metilico

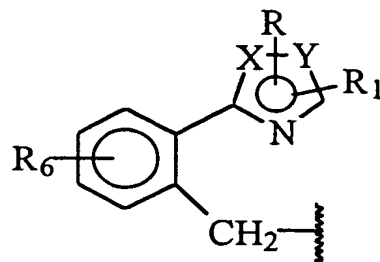




su un anello aromatico in un gruppo carbossilico. In particolare, sono utilizzati il permanganato, l'acido nitrico, il dicromato, mentre lo stadio riduttivo è facilmente realizzato mediante impiego di un idruro metallico. In alternativa, il derivato (XIa) può essere realizzato secondo il procedimento descritto in EP 80053.

Con riferimento ai derivati di formula (I) oggetto della presente invenzione, il procedimento per la loro preparazione a partire dal corrispondente derivato di formula (IX) varia a seconda che il sostituyente R sia uguale ad idrogeno o uguale a  $-COR_8$  con  $R_8$  definito come in precedenza in relazione ai derivati di formula (I).

Nel caso in cui  $R=H$ , il derivato di formula (IX) viene fatto reagire secondo tecniche note in letteratura, con fosgene ( $COCl_2$ ) in rapporto equimolare ed il clorocarbonato risultante viene a sua volta fatto reagire con un derivato Z dove  $Z=OR_7$  con  $R_7$  è scelto tra idrocarburo alifatico saturo o insaturo, lineare o ramificato  $C_1-C_{20}$ , oppure è scelto secondo la formula seguente:



(XII)

dove R, R<sub>1</sub>, X ed Y sono definiti come sopra, ed R<sub>6</sub> è scelto tra idrogeno, alogeno, alchile o alcossile C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>, oppure Z è scelto uguale a NHR<sub>8</sub> dove R<sub>8</sub> è una catena alchilica C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub> lineare o ramificata.

Il derivato di formula (I) dove R è scelto uguale a idrogeno, viene quindi eventualmente separato mediante tecniche note da eventuali sottoprodotti formatisi durante la reazione con fosgene. Il fosgene da utilizzare può essere vantaggiosamente scelto tra le preparazioni disponibili attualmente in commercio già disciolto in solventi opportuni.

Seguendo questa procedura, possono quindi essere preparati, ad esempio, i derivati (V), (VI), (VII) oggetto del presente trovato.

In alternativa, il derivato di formula (IX) può essere sottoposto a reazioni secondo il seguente schema generale, quando si vogliono preparare derivati di formula (I) dove R<sub>7</sub> è scelto come (XII) (carbonati simmetrici) o quando R<sub>7</sub> è scelto come idrocarburo



alifatico saturo o insaturo, lineare o ramificato C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub> (carbonati asimmetrici). In particolare:

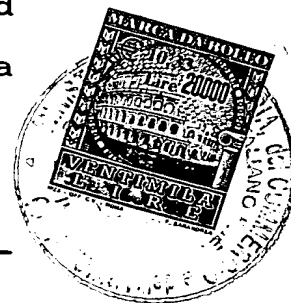
- sia per la preparazione degli intermedi (alcolato e imidazolide) che per quella del carbonato finale, viene usato un solvente inerte, quale tetraidrofurano, diclorometano, cloroformio ecc.;
- la preparazione dell'alcolato viene condotta sull'alcool prescelto usando come base sodio idruro o sodio metallico in quantità catalitiche o stechiometriche, ad una temperatura compresa tra 0 e 60°C (ottimale temperatura ambiente) e per un tempo compreso tra 30 minuti e 12 ore (ottimale 1 ora);
- la sintesi dell'imidazolide del secondo alcool é condotta utilizzando come reattivo carbonildiimidazolo ad una temperatura compresa tra 0 e 60°C (ottimale temperatura ambiente) e per un tempo compreso tra 30 minuti e 12 ore (ottimale 1 ora);
- la sintesi dei carbonati finali é condotta miscelando le soluzioni opportune dell'alcolato e dell'imidazolide per un tempo compreso tra 6 e 24 ore (ottimale 12 ore) e ad una temperatura compresa tra 10 e 60°C (ottimale temperatura ambiente).

Viene qui di seguito riportata, a solo titolo esemplificativo e non limitativo del presente trovato, un metodo generale per la sintesi di derivati di

formula (I) dove R é scelto uguale a idrogeno, R<sub>3</sub> é scelto uguale a idrogeno, R<sub>4</sub> è scelto uguale ad etossile, R<sub>5</sub> è scelto uguale a COOR<sub>7</sub> dove R<sub>7</sub> è catena alchilica lineare o ramificata C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>.

ESEMPIO 1

Una soluzione di 3-(2- (idrossimetil)fenil) -5- (3-etossifenil) -1H- 1,2,4 triazolo (3g, 10 mmoli) in tetraidrofurano (50 ml) é aggiunta a temperatura ambiente ad una sospensione di sodio idruro all'80% (310 mg, 10 mmoli) in tetraidrofurano (50 ml). La miscela di reazione é agitata a temperatura ambiente per 1 ora. La soluzione ottenuta é quindi aggiunta ad una soluzione in tetraidrofurano dell'imidazolidide dell'alcool opportuno per trattamento del derivato alcolico (10 mmoli) con 1'1,1'- carbonildiimidazolo (1.65 g, 10 mmoli) in tetraidrofurano (20 ml) per 1 ora a temperatura ambiente. La miscela é agitata a temperatura ambiente per una notte, quindi il solvente é evaporato sotto vuoto e il grezzo é ridisciolto in cloruro di metilene. La soluzione organica é lavata con acqua, seccata su solfato di sodio anidro ed evaporata sotto vuoto. Il grezzo così ottenuto é purificato mediante colonna cromatografica su gel di silice (eluente easno-etile acetato 8-2). Il residuo solido



puro risultante dall'evaporazione del solvente, è  
ripreso con esano, filtrato e seccato sotto vuoto.

I seguenti prodotti, sono stati preparati seguendo il  
procedimento riportato all'Esempio 1.

#### ESEMPIO 2

Preparazione di 3-(2- (etossicarbonilossimetil) fenil -  
5- (3-etossifenil) -1H- 1,2,4 triazolo (XV).

Resa 52%; p.f.= 124-126 °C

<sup>1</sup>H-NMR: 7.98 (1H, t, J=4.1 Hz); 7.72-7.40 (6H, m); 7.06  
(1H, d, J=6.9 Hz); 5.68 (2H, s); 4.16 (2H, q, J=7.0 Hz);  
4.14 (2H, q, J=7.1 Hz); 1.40 (3H, t, J=7.0 Hz); 1.21  
(3H, t, J=7.1 Hz).

<sup>13</sup>C-NMR: 158.76, 154.21, 133.65, 129.83, 129.04,  
128.77, 128.60 (2C), 118.16 (2C), 115.86, 112.04 (2C),  
67.20, 63.33, 63.15, 14.36, 13.82.

#### ESEMPIO 3

Preparazione di 3-(2- (butossicarbonilossimetil) fenil)  
-5- (3-etossifenil) -1H- 1,2,4 triazolo (XIV).

Resa 58%; p.f.= 119-121 °C.

<sup>1</sup>H-NMR: 8.00 (1H, t, J=4.8 Hz); 7.70-7.40 (6H, m); 7.03  
(1H, d, J=7.2 Hz); 5.62 (2H, s); 4.12 (2H, q, J=7.0  
Hz); 4.03 (2H, t, J=6.4 Hz); 1.49 (2H, m); 1.36 (3H, t,  
J=7.0 Hz); 1.23 (2H, m); 0.80 (3H, t, J=7.3 Hz).



$^{13}\text{C}$ -NMR: 158.70, 154.29, 133.51, 129.89, 129.20 (2C),  
128.63 (2C), 128.35 (2C), 118.15 (2C), 115.96, 111.98  
(2C), 67.27, 67.17, 63.20, 29.85, 18.03, 14.26, 12.98.

ESEMPIO 4

Preparazione di 3-(2- (esilossicarbonilossimetil)  
fenil) -5- (3-etossifenil) -1H- 1,2,4 triazolo (XVI).

Resa 42%; p.f. = 90-92 °C.

$^1\text{H}$ -NMR: 8.07 (1H, m); 7.69-7.40 (6H, m); 7.06 (1H, d,  
J=7.3 Hz); 5.68 (2H, s); 4.15 (2H, q, J=7.0 Hz); 4.07  
(2H, t, J=6.6 Hz); 1.56 (2H, m); 1.40 (3H, t, J=7.0  
Hz); 1.23 (6H, m); 0.85 (3H, t, J=6.5 Hz).

$^{13}\text{C}$ -NMR: 158.76, 154.29, 133.65, 129.79, 128.87 (2C),  
128.59 (2C), 128.15 (2C), 118.15 (2C), 115.87, 112.03  
(2C), 67.37, 67.29, 63.13, 30.49, 27.87, 24.52, 21.61,  
14.36, 13.43.

ESEMPIO 5

Preparazione di 3-(2- (ottilossicarbonilossimetil)  
fenil) -5- (3-etossifenil) -1H- 1,2,4 triazolo (VI).

Resa 49%; p.f. = 86-89 °C.

$^1\text{H}$ -NMR: 8.06 (1H, m); 7.72-7.40 (6H, m); 7.05 (1H, d,  
J=7.1 Hz); 5.69 (2H, s); 4.15 (2H, q, J=7.0 Hz); 4.07  
(2H, t, J=6.4 Hz); 1.56 (2H, m); 1.40 (3H, t, J=7.0  
Hz); 1.23 (10H, m); 0.86 (3H, t, J=6.5 Hz).

$^{13}\text{C}$ -NMR: 158.76, 154.28, 133.65, 129.77, 129.01,  
128.84, 128.59 (2C), 128.13 (2C), 118.16 (2C), 115.83,

112.03 (2C), 67.37, 67.30, 63.13, 30.88, 28.23 (2C),  
27.91, 24.89, 21.72, 14.35, 13.53.

Nel seguente esempio è riportata la sintesi di un derivato di formula (I) dove il gruppo R<sub>7</sub> è scelto di formula (XII) (carbonati simmetrici).

#### ESEMPIO 6

Preparazione di Di-(2-(5- (3-etossifenil) -1H- 1,2,4 - triazol-3-il) fenilmetil) carbonato (XVII).

Una soluzione di 3-(2-(idrossimetil) fenil) -5-(3-etossifenil) -1H- 1,2,4 triazolo (0.7 g, 2.4 mmoli) in tetraidrofurano (15 ml) è aggiunta a temperatura ambiente ad una sospensione di sodio idruro all'80% (35 mg, 1.2 mmoli) in tetraidrofurano (15 ml): La miscela di reazione è agitata a temperatura ambiente per 1 ora. La soluzione ottenuta è quindi trattata con 1,1'-carbonildiimidazolo (192 mg, 1.2 mmoli) e agitata successivamente a temperatura ambiente per una notte. Il solvente è evaporato sotto vuoto e il grezzo è ridisciolto in cloruro di metilene. La soluzione organica è lavata con acqua, seccata su solfato di sodio anidro ed evaporata sotto vuoto. Il grezzo così ottenuto è purificato mediante colonna cromatografica su gel di silice (eluente esano-etile acetato 7-3). Il residuo solido puro risultante dall'evaporazione del



solvente, è ripreso con esano, filtrato e seccato sotto vuoto ottenendo 212 mg di prodotto.

Resa 36%; p.f.=143-145 °C

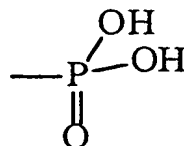
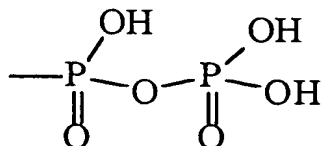
<sup>1</sup>H-NMR: 8.07 (2H,m); 7.69-7.38 (12H, m); 7.03 (2H,d, J=8.4 Hz); 5.72 (4H,s); 4.12 (4H, q, J=7.0 Hz); 1.37 (6H,t, J=7.0 Hz).

<sup>13</sup>C-NMR: 158.74, 154.21, 133.59, 129.81 (2C), 128.97 (2C), 128.02 (2C), 118.18 (2C), 115.88, 112.00 (2C), 67.41, 63.13, 14.33.



Nel caso in cui R sia scelto uguale a -COR<sub>8</sub>, dove R<sub>8</sub> è un idrocarburo alifatico, saturo o insaturo C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>, il gruppo OH del derivato (IX) sarà protetto secondo tecniche note, con ottenimento di un derivato (IXb) protetto, il quale sarà sottoposto a reazione di acilazione secondo tecniche note, per introdurre il gruppo -COR<sub>8</sub> con ottenimento di un derivato acilato, successivamente detto derivato acilato sarà deprotetto e sottoposto a reazione con fosgene come sopra riportato. Nel caso in cui X=Y=N, la reazione di acilazione potrà essere realizzata secondo quanto descritto in EP 80053.

Quando R<sub>5</sub> è scelto uguale a:







i derivati di formula (I) vengono vantaggiosamente preparati a partire da derivati di formula (IX) eventualmente sottoposti a preventiva reazione di acilazione come già descritto, per trattamento con acido fosforico o equivalenti secondo tecniche note.

Seguendo questo procedimento, viene preparato, ad esempio, il derivato (VIII) oggetto del presente trovato.

Nel caso dei derivati di formula (I) quando  $X=Y=N$  ed  $R=H$ , dalle procedure di acilazione sopra descritte possono essere ottenuti sia singoli composti, dove il sostituente  $R$  è posizionato su uno solo dei due atomi di azoto adiacenti, sia miscele dei due possibili isomeri. In questo caso, fermo restando che ciascun isomero possiede la stessa attività anti-gestativa, antitumorale ed immunosoppressiva, la miscela può essere separata nei singoli componenti mediante tecniche chimico-fisiche di tipo noto. Ad esempio, un metodo per risolvere la miscela nei singoli componenti è basato sulla cristallizzazione frazionata, che si fonda sulle solubilità differenti dei singoli componenti in solventi predeterminati a differenti temperature. Adatti solventi che possono essere vantaggiosamente utilizzati per questo metodo, sono scelti ad esempio tra esano, etile acetato, eteri

alchilici C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, cloruro di metilene, etere di petrolio e relative miscele. Un ulteriore esempio di metodo utilizzabile per la separazione della miscela è basato sull'impiego di una colonna cromatografica, su supporto non-acido, tamponato, quale ad esempio gel di silice tamponato a pH=7. Un ulteriore esempio di separazione della miscela è basato sull'impiego della cromatografia liquida ad alta pressione (HPLC), che è realizzata utilizzando colonne adatte, ad esempio a base di gel di silice esterificato con octilsilano o octildecasilano.

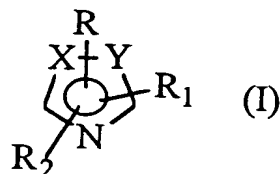
Roberto Trupiano  
Federica Trupiano

*Brevetti Europa s.r.l.*

*Federico Trupiano*

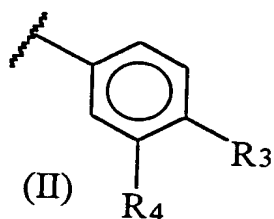
# RIVENDICAZIONI

1. Derivati eterociclici aromatici azotati aventi la seguente formula generale:

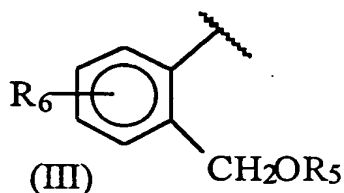


dove:

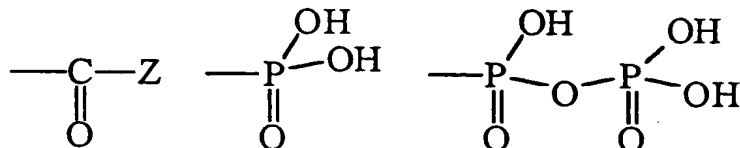
- quando  $X=Y$ ,  $X,Y=N$ ;
- quando  $X\neq Y$ ,  $X,Y=N,C,CH$ ;
- R è scelto tra idrogeno,  $-COR_8$  dove  $R_8$  è un idrocarburo alifatico, saturo o insaturo  $C_1-C_{10}$ , oppure R rappresenta qualsiasi altro gruppo adatto a formare un legame con un atomo di azoto;
- $R_1$  ha la seguente formula generale:



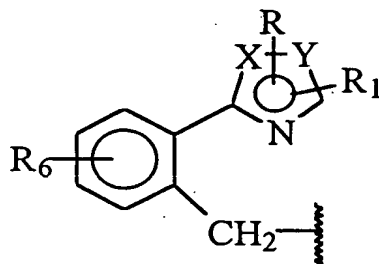
- dove  $R_3$  è scelto tra idrogeno, alogeno, alchile o alcossile  $C_1-C_{10}$ ,  $R_4$  è scelto tra idrogeno, alchile o alcossile  $C_1-C_{10}$ , oppure  $R_3$  ed  $R_4$  presi assieme rappresentano un gruppo metilendioksi;
- $R_2$  ha la seguente formula generale:



dove R<sub>5</sub> è scelto tra



dove Z=OR<sub>7</sub> con R<sub>7</sub> scelto tra: idrocarburo alifatico saturo o insaturo, lineare o ramificato C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>, oppure è scelto secondo la formula seguente:



(XII)

dove R, R<sub>1</sub>, X ed Y sono definiti come sopra, ed R<sub>6</sub> è scelto tra idrogeno, alogeno, alchile o alcossile C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>, oppure Z è scelto uguale a NHR<sub>8</sub> dove R<sub>8</sub> è una catena alchilica C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub> lineare o ramificata, detti R<sub>1</sub> ed R<sub>2</sub> non essendo mai posizionati su due atomi adiacenti dell'anello eterociclico aromatico.

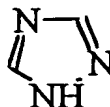
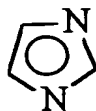
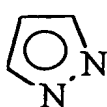
2. Derivati eterociclici aromatici azotati secondo la rivendicazione 1 caratterizzati dal fatto che detto idrocarburo alifatico saturo o insaturo C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub> è un



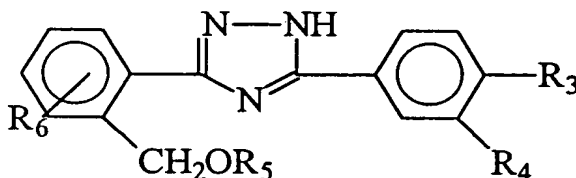


gruppo alchile, alchenile o alchinile lineare o ramificato, che può contenere anche più di un doppio o triplo legame, e detto alchile o alcossile C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> è un gruppo alchilico o alcossilico lineare o ramificato C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>.

3. Derivati eterociclici aromatici azotati secondo la rivendicazione 1, caratterizzati dal fatto che è un derivato rispettivamente di pirazolo, imidazolo e 1H-1,2,4-triazolo:

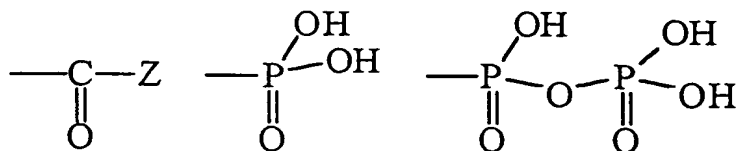


4. Derivati eterociclici aromatici azotati secondo la rivendicazione 1, caratterizzati dal fatto che X=Y=N, R=H ed hanno la seguente formula generale:

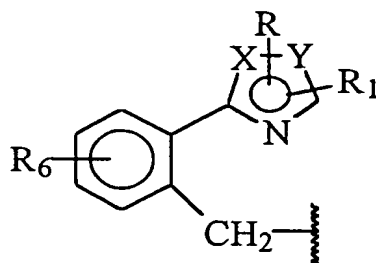


(IV)

dove R<sub>3</sub> è scelto tra idrogeno, alogeno, alchile o alcossile C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>, R<sub>4</sub> è scelto tra idrogeno, alchile o alcossile C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>, oppure R<sub>3</sub> ed R<sub>4</sub> presi assieme rappresentano un gruppo metilendioksi, R<sub>5</sub> è scelto tra



dove  $Z=OR_7$  con  $R_7$  scelto tra idrocarburo alifatico saturo o insaturo, lineare o ramificato  $C_1-C_{20}$ , oppure è scelto secondo la formula seguente:

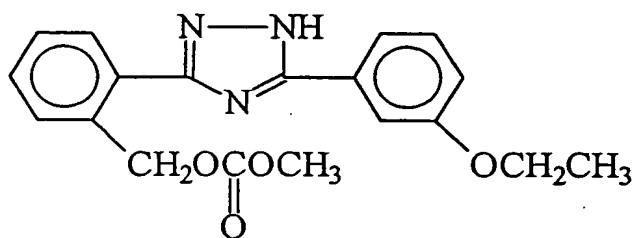


(XII)

dove  $R$ ,  $R_1$ ,  $X$  ed  $Y$  sono definiti come sopra, ed  $R_6$  è scelto tra idrogeno, alogeno, alchile o alcossile  $C_1-C_{10}$ , oppure  $Z$  è scelto uguale a  $NHR_8$  dove  $R_8$  è una catena alchilica  $C_1-C_{20}$  lineare o ramificata.

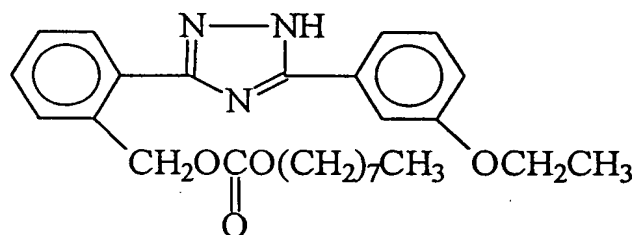
5. Derivati eterociclici aromatici azotati secondo la rivendicazione 4, caratterizzati dal fatto che detto  $R_6$  è scelto uguale a idrogeno, detto  $R_4$  è scelto uguale a  $OCH_3$  oppure  $OCH_2CH_3$ , detto  $R_3$  è scelto uguale a idrogeno, e detto  $R_5$  è scelto uguale a  $COZ$  dove  $Z=OR_7$  con  $R_7$  è un gruppo idrocarburo alifatico lineare saturo  $C_1-C_{12}$ .

6. Derivato eterociclico aromatico azotato secondo la rivendicazione 1, caratterizzato dal fatto che ha la seguente formula:



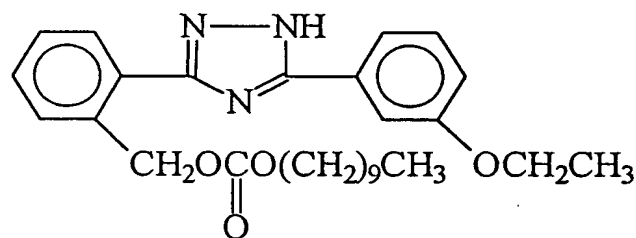
(V)

7. Derivato eterociclico aromatico azotato secondo la rivendicazione 1, caratterizzato dal fatto che ha la seguente formula:



(VI)

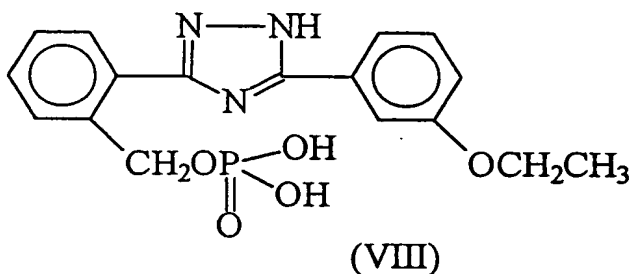
8. Derivato eterociclico aromatico azotato secondo la rivendicazione 1, caratterizzato dal fatto che ha la seguente formula:



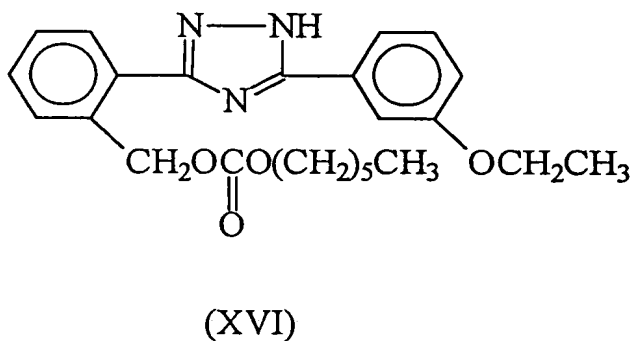
(VII)

9. Derivato eterociclico aromatico azotato secondo la rivendicazione 1, caratterizzato dal fatto che ha la seguente formula:

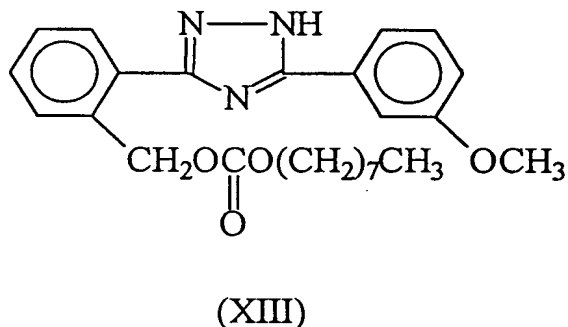
CT



10. Derivato eterociclico aromatico azotato secondo la rivendicazione 1, caratterizzato dal fatto che ha la seguente formula:

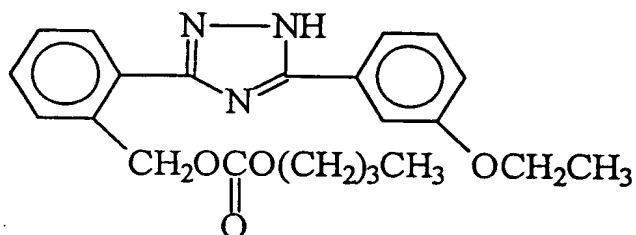


11. Derivato eterociclico aromatico azotato secondo la rivendicazione 1, caratterizzato dal fatto che ha la seguente formula:



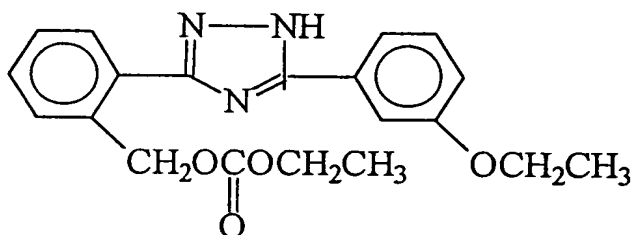
12. Derivato eterociclico aromatico azotato secondo la rivendicazione 1, caratterizzato dal fatto che ha la seguente formula:





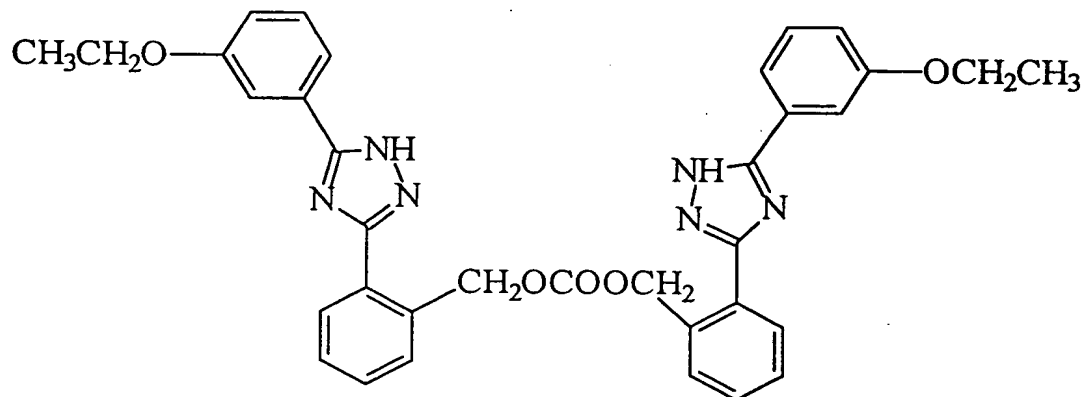
(XIV)

13. Derivato eterociclico aromatico azotato secondo la rivendicazione 1, caratterizzato dal fatto che ha la seguente formula:



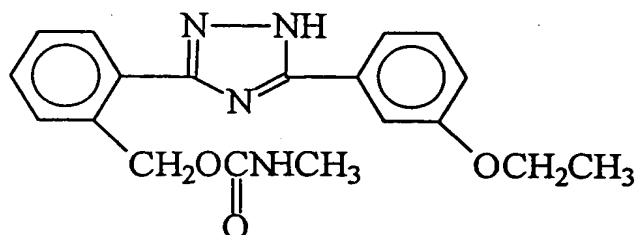
(XV)

14. Derivato eterociclico aromatico azotato secondo la rivendicazione 1, caratterizzato dal fatto che ha la seguente formula:



(XVII)

15. Derivato eterociclico aromatico azotato secondo la rivendicazione 1, caratterizzato dal fatto che ha la seguente formula:



(XVIII)

16. Impiego di derivati eterociclici aromatici azotati di cui alla rivendicazione 1 come anti-gestativi.

17. Impiego di derivati eterociclici aromatici azotati di cui alla rivendicazione 1 come immunosoppressivi.

18. Impiego di derivati eterociclici aromatici azotati di cui alla rivendicazione 1 come antitumorali.

19. Impiego di derivati eterociclici aromatici azotati di cui alla rivendicazione 18, in particolare come inibitore della crescita del coriocarcinoma umano.

20. Impiego di derivati eterociclici aromatici azotati di cui alla rivendicazione 1, per la preparazione di un medicamento ad azione anti-gestativa.

21. Impiego di derivati eterociclici aromatici azotati di cui alla rivendicazione 1, per la preparazione di un medicamento ad azione immunosoppressiva.



22. Impiego di derivati eterociclici aromatici azotati di cui alla rivendicazione 1, per la preparazione di un medicamento ad azione antitumorale.

23. Composizione farmaceutica ad azione anti-gestativa che comprende almeno un derivato eterociclico aromatico azotato di cui alla rivendicazione 1 come principio attivo.

24. Composizione farmaceutica ad azione immunosoppressiva che comprende almeno un derivato eterociclico aromatico azotato di cui alla rivendicazione 1 come principio attivo.

25. Composizione farmaceutica ad azione antitumorale che comprende almeno un derivato eterociclico aromatico azotato di cui alla rivendicazione 1 come principio attivo.

26. Composizione farmaceutica di cui alle rivendicazioni da 23 a 25, caratterizzata dal fatto che è formulata impiegando opportuni sistemi adatti ad un rilascio transdermico.

27. Composizione farmaceutica di cui alle rivendicazioni da 23 a 25, caratterizzata dal fatto che è formulata impiegando opportuni sistemi acquosi adatti ad una somministrazione di tipo intravenosa.

28. Composizione farmaceutica di cui alle rivendicazioni da 23 a 25, caratterizzata dal fatto che

*CT*

è formulata impiegando opportuni sistemi non acquosi adatti ad una somministrazione di tipo epicutaneo, subcutaneo, intramuscolo.

29. Composizione farmaceutica secondo la rivendicazione 28, caratterizzata dal fatto che comprende oli di origine vegetale o esteri di acidi grassi quali olio di sesamo, olio di semi di mais, olio di arachidi, olio di semi di cotone, oleato di etile.

30. Composizioni farmaceutiche secondo le rivendicazioni da 23 a 29, caratterizzate dal fatto che comprendono agenti microbici di tipo noto.

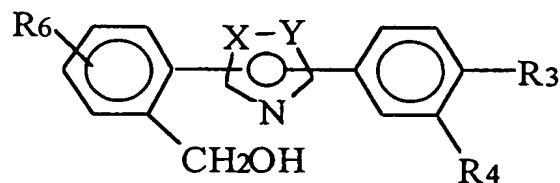
31. Composizioni farmaceutiche secondo le rivendicazioni da 23 a 29, caratterizzate dal fatto che comprendono agenti antiossidanti di tipo noto.

32. Composizioni farmaceutiche secondo le rivendicazioni da 23 a 31, caratterizzate dal fatto che comprendono dall'1% al 10% (peso/volume) di almeno un derivato eterociclico aromatico azotato di cui alla rivendicazione 1.

33. Procedimento per la preparazione di derivati eterociclici aromatici azotati di cui alla rivendicazione 1 che comprende le seguenti fasi:

- preparazione di un derivato eterociclico aromatico azotato di formula generale:





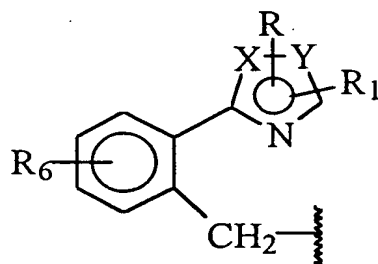
(IX)

- eventuale protezione del gruppo OH, eventuale reazione di acilazione con introduzione di un gruppo -COR<sub>8</sub> con ottenimento di un derivato acilato, successiva deprotezione del gruppo OH,

e quindi, alternativamente:

- reazione di detto derivato (IX) con un agente carbonatante, con ottenimento di un prodotto carbonato corrispondente,

- reazione di detto prodotto carbonato con un derivato Z dove Z=OR<sub>7</sub> con R<sub>7</sub> scelto tra idrocarburo alifatico saturo o insaturo, lineare o ramificato C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>, oppure è scelto secondo la formula seguente:



(XII)

dove R, R<sub>1</sub>, X ed Y sono definiti come sopra, ed R<sub>6</sub> è scelto tra idrogeno, alogeno, alchile o alcossile C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>, oppure Z è scelto uguale a NHR<sub>8</sub> dove R<sub>8</sub> è una

catena alchilica  $C_1-C_{20}$  lineare o ramificata, con  
ottenimento di detto derivato di formula (I),

oppure:

- reazione di detto derivato (IX) con acido fosforico o  
prodotti equivalenti, con ottenimento di detto derivato  
di formula (I).

34. Procedimento secondo la rivendicazione 33,  
caratterizzato dal fatto che detto agente carbonatante  
è fosgene ( $COCl_2$ ).

Roberto Trupiano  
Federica Trupiano

*Brevetti Europa s.r.l.*

*Federica Trupiano*

